

## Lama Penyimpanan, Karakterisasi Fisiologi, dan Viabilitas Bakteri Endofit *Bacillus* sp. dalam Formula Tepung

### Storage Time, Physiological Characterization, and Viability of Endophytic Bacteria *Bacillus* sp. in Powder Formulation

Diana Putri, Abdul Munif\*, Kikin Hamzah Mutaqin  
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

#### ABSTRAK

Bakteri endofit sebagai agens biokontrol dapat dibuat formula untuk mempertahankan kemampuannya sebagai pengendali penyakit. Tiga isolat bakteri endofit yang mampu menekan serangan *Meloidogyne* sp. dan meningkatkan pertumbuhan lada telah diperoleh dari penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh lama penyimpanan formula tepung dalam mempertahankan viabilitas bakteri endofit dan karakterisasi fisiologi isolat endofit *Bacillus* sp. AA2, *Bacillus* sp. MER dan isolat MSJ. Formula yang digunakan ialah formula 1 (50 g talk, 1 g pepton, 0.5 g CMC, dan 1.5 g gula merah), formula 2 (50 g talk, 1 g pepton, 0.5 g CMC, dan 1.5 g gula putih), formula 3 (50 g talk, 1 g pepton, 0.5 g CMC, 1 g ekstrak khamir, dan 1.5 g gula putih dan) dan formula 4 (50 g talk, 1 g pepton, 0.5 g CMC, 1 g ekstrak khamir, 3 mL molase, 1 g bentonit, 0.75 g kalsium karbonat, dan 1 g dektrosa). Hasil karakterisasi bakteri menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. AA2 dan *Bacillus* sp. MER bersifat Gram positif, menghasilkan enzim kitinase, protease dan hormon IAA, sedangkan isolat MSJ menghasilkan enzim lipase dan hormon IAA. Sifat penambat nitrogen hanya ditemukan pada isolat *Bacillus* sp. AA2 dan isolat MSJ. Bakteri dengan viabilitas tertinggi adalah isolat MSJ, yaitu  $2.5 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> dalam formula 4, sedangkan isolat *Bacillus* sp. AA2 dan *Bacillus* sp. MER masing-masing  $1.9 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> dan  $1.2 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> dalam formula 3.

Kata kunci: bahan pembawa, daya tumbuh, talk

#### ABSTRACT

Endophytic bacteria can be formulated to retain its ability as disease control agents. Three of endophytic bacteria which had the capability to suppress infection of *Meloidogyne* sp, and to enhance pepper growth were gained from the previous study. This research was aimed to evaluate the influence of storage time on the viability of endophytic bacteria, *Bacillus* sp. AA2, *Bacillus* sp. MER and MSJ, and to study its physiological characterization during storage. The formulation evaluated in this study was : formulation 1 (50 g talc, 1 g pepton, 0.5 g CMC, and brown sugar 1.5 g), formulation 2 (50 g talc, 1 g pepton, 0.5 g CMC, and 1.5 g white sugar), formulation 3 (50 g talc, 1 g pepton, 0.5 g CMC, 1 g yeast extract, and 1.5 g white sugar) and formulation 4 (50 g talc, 1 g pepton, 0.5 g CMC, 1 g yeast extract, 3 mL molasses, 1 g bentonite, 0.75 g calcium carbonate, and 1 g dextrose). The results of the bacterial characterization showed that *Bacillus* sp AA2 and *Bacillus* sp. MER belongs to Gram positive, produced lipase and protease enzyme, as well as IAA hormone. N<sub>2</sub> fixation is only existed in *Bacillus* sp. AA2 and MSJ isolate. The highest viability was shown on MSJ isolate with  $2.5 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> in the fourth formulation, whereas *Bacillus* sp. AA2 and *Bacillus* sp. MER viability was  $1.9 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> and  $1.2 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup>, respectively.

Key words: carrier agent, growth capability, talc

\*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Jalan Kamper, Bogor 16680  
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: Munif73@gmail.com

## PENDAHULUAN

Bakteri endofit adalah bakteri yang mengkolonisasi jaringan tanaman sehat tanpa menyebabkan gejala penyakit pada inangnya. Bakteri endofit dapat berperan sebagai agens pengendali hayati dengan cara meningkatkan pertumbuhan tanaman, menyediakan nutrisi, menghasilkan hormon pertumbuhan, dan menginduksi ketahanan tanaman. Bakteri endofit *Bacillus* sp. dari tanaman lada dilaporkan efektif dalam menekan jumlah puru akar dan populasi *Meloidogyne incognita* serta memacu pertumbuhan bibit lada (Munif dan Harni 2011) demikian juga dengan isolat MSJ dari tanaman kehutanan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat (Wibowo 2013).

Bakteri endofit yang berpotensi sebagai agens hayati perlu dibuat dalam bentuk formula agar dapat disebarluaskan kepada pengguna, meningkatkan daya hidup sel bakteri selama penyimpanan, serta memudahkan aplikasi. Formula yang sesuai untuk melindunginya akan meningkatkan kehidupannya. Bahan pembawa untuk formula harus mengandung komponen penting yang mendukung viabilitas dan pertumbuhan mikrob yang ada didalamnya, seperti karbohidrat, protein, air, asam amino, lemak, dan garam mineral.

Beberapa bakteri endofit menghasilkan enzim ekstraseluler (kitinase, protease dan lipase), pelarut fosfat, penambat nitrogen, dan penghasil hormon IAA (Hallmann *et al.* 1997). Mitchell dan Alexander (1962) melaporkan bahwa enzim kitinase dan selulase yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* dapat mendegradasi dinding sel patogen *Fusarium oxysporum*. *B. circulans* dilaporkan dapat menghasilkan enzim kitinase (Chen *et al.* 2004). Oleh karena itu evaluasi pengaruh lama penyimpanan formula tepung terhadap viabilitas bakteri endofit (*Bacillus* sp. AA2, *Bacillus* sp. MER, dan isolat MSJ) dan karakterisasi fisiologinya perlu dilakukan.

## BAHAN DAN METODE

Bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini ialah *Bacillus* sp. isolat AA2 dan

*Bacillus* sp. isolat MER yang diisolasi dari tanaman lada dan isolat MSJ yang diisolasi dari tanaman mahoni. Ketiganya merupakan koleksi Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

### Uji Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan untuk menentukan bakteri endofit yang diuji tidak bersifat patogen pada tanaman. Isolat bakteri endofit dibiakkan pada medium *tryptone soya agar* (TSA) selama 48 jam selanjutnya disuspensikan pada medium *tryptone soya broth* (TSB) dan dikocok dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam pada suhu ruang. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri diinjeksi pada bagian bawah daun tembakau. Ada tidaknya gejala nekrosis pada daun tembakau diamati setelah 48 jam (Huang *et al.* 1988).

### Karakterisasi Bakteri Endofit

Tiga isolat bakteri endofit diuji terhadap pewarnaan Gram, aktivitas kitinolitik, proteolitik, lipolitik, pelarut fosfat, penambat nitrogen, dan produksi hormon IAA. Bakteri dibiakkan pada medium spesifik kitin 1% (15 g bacto, 5 g glukosa, 2 g pepton, 10 g koloidal kitin, 0.5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 g MgSO<sub>4</sub>, 0.5 g NaCl dalam 1 L akuades). Aktivitas kitinolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri setelah diinkubasi selama 24–72 jam (Hariprasad *et al.* 2011).

Uji proteolitik dilakukan menggunakan medium *skim milk agar* (SMA) 1% (900 mL medium TSA 100% steril dan 10 g susu skim dalam 100 mL akuades yang telah dipasteurisasi pada suhu 110 °C selama 10 menit). Bakteri endofit digores pada medium SMA 1% dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24–72 jam. Aktivitas proteolitik yang diamati ialah terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (Baehaki *et al.* 2011).

Medium rhodamin-B disiapkan dengan komposisi (8 g *nutrient broth*, 4 g sodium klorid, 10 g agar-agar, dan larutan rhodamin B sebanyak 0.001% dalam 1 L dengan pH 7). Minyak zaitun 2.5% dituangkan ke dalam rhodamin B yang telah disterilkan. Selanjutnya, medium dimasukkan ke dalam

cawan petri. Bakteri endofit digores pada medium dan diinkubasi selama 48 jam. Pengamatan terpendar atau tidaknya isolat dilakukan dibawah lampu UV (Kouker dan Jaeger 1987).

Uji kemampuan bakteri untuk memobilisasi fosfat dilakukan menggunakan medium agar-agar pikovskaya dengan penambahan *tri-calcium phosphate* (TCP) 100%. Komposisi dalam 1 L medium terdiri atas 10 g glukosa, 0.2 g NaCl, 0.2 g KCl, 0.1 g MgSO<sub>4</sub>, 2.5 mg MnSO<sub>4</sub>, 2.5 mg FeSO<sub>4</sub>, 0.5 g ekstrak khamir, 0.5 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan 15 g agar-agar. Bakteri digores pada medium dan diinkubasi pada suhu ruang selama 4–8 hari. Zona bening di sekitar bakteri menunjukkan kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat (Thakuria *et al.* 2004).

Uji penambat nitrogen menggunakan medium semi padat NFB (*nitrogen free malt bromthymol Blue*). Bakteri endofit dibiakkan pada medium TSB 100%, kemudian 1 mL suspensi bakteri dengan kerapatan 10<sup>8</sup> cfu mL<sup>-1</sup> dibiakkan pada 9 mL medium NFB dan diinkubasi selama 48 jam. Kemampuan bakteri menambat nitrogen ditandai dengan perubahan warna medium menjadi biru atau biru tua serta terbentuknya lapisan lendir atau *pellicle* pada permukaan medium (Yim *et al.* 2009).

Penentuan hormon IAA dilakukan menggunakan spektrofotometer. Satu ose isolat bakteri endofit dibiakkan pada 10 mL medium NB yang ditambahi L-triptofan

0.2 mM, kemudian dikocok selama 48 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Sebanyak 3 mL biakkan bakteri uji dimasukkan ke dalam tabung mikro, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10 000 rpm selama 15 menit. Sebanyak 2 mL supernatan yang diperoleh dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril dan ditambahi 2 mL reagen Salkowski (150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, 250 akuades, 7.5 mL FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.5 M). Suspensi diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruang dan IAA diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm (Widyawati 2008).

### Formula Tepung Bakteri Endofit

Sebanyak 4 jenis formula tepung bakteri endofit dirancang dalam penelitian ini (Tabel 1). Penelitian diulang 3 kali. Bahan keempat formula dikemas dalam plastik tahan panas ukuran 250 g dan disterilkan dalam autoklaf. Bahan yang telah steril ditambahi 5 mL suspensi bakteri endofit (10<sup>8</sup> cfu mL<sup>-1</sup>), kemudian dicampur rata secara aseptik dan diinkubasi selama 1 minggu pada suhu ruang (Muis 2006).

Uji viabilitas bakteri endofit dalam kemasan dilakukan dengan mengambil 1 g tepung dan dibiakkan dengan teknik pengenceran berseri sampai dengan peng-enceran 10<sup>-4</sup>. Suspensi bakteri endofit dibiakkan pada medium TSA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24–48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh setiap bulan dihitung dan dikonversikan ke dalam satuan cfu mL<sup>-1</sup>.

Tabel 1 Komposisi bahan yang digunakan untuk pembuatan formula tepung bakteri endofit

Bahan	Jenis formula			
	1	2	3	4
Talk (g)	50.0	50.0	50.0	50.00
Pepton (g)	1.0	1.0	1.0	1.00
CMC (g)	0.5	0.5	0.5	0.50
Gula merah (g)	1.5	0.0	0.0	0.00
Gula putih (g)	0.0	1.5	1.5	0.00
Ekstrak khamir (g)	0.0	0.0	1.0	1.00
Bentonit (g)	0.0	0.0	0.0	1.00
Kalsium karbonat (g)	0.0	0.0	0.0	0.75
Dekstrosa (g)	0.0	0.0	0.0	1.00
Molase (mL)	0.0	0.0	0.0	3.00

## HASIL

### Karakter Fisiologi Bakteri Endofit

*Bacillus* sp. isolat AA2 dan *Bacillus* sp. isolat MER tergolong bakteri Gram positif, sedangkan isolat MSJ merupakan bakteri Gram negatif. Tiga isolat bakteri endofit tersebut dapat menghasilkan hormon IAA. *Bacillus* sp. isolat AA2 dan *Bacillus* sp. isolat MER menghasilkan enzim protease dan kitinase, sedangkan enzim lipase hanya dihasilkan oleh isolat MSJ. Uji penambatan nitrogen menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. isolat AA2 dan isolat MSJ mampu menambat nitrogen. Ketiga isolat dalam penelitian ini menunjukkan reaksi hipersensitif negatif. Ketiga isolat bakteri tidak mampu memobilisasi fosfat (Tabel 2).

### Formula Tepung Bakteri Endofit

Viabilitas bakteri endofit dalam 4 macam tepung mengalami fluktuatif selama 6 bulan penyimpanan pada suhu ruang. *Bacillus* sp. isolat AA2 memiliki viabilitas tertinggi  $1.9 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> pada penyimpanan bulan ke-3, tetapi pada bulan ke-5 dan ke-6 tidak ada lagi bakteri yang tumbuh. Viabilitas bakteri pada formula 2 dan 3 cenderung stabil sampai 6 bulan penyimpanan, sedangkan pada formula 1 hanya bertahan sampai penyimpanan bulan ke-5. *Bacillus* sp. isolat MER memiliki viabilitas tertinggi  $1.2 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> pada penyimpanan bulan ke-3 dan menurun sampai penyimpanan bulan ke-6. Viabilitas bakteri pada formula 1, 2,

dan 4 meningkat dari bulan pertama sampai bulan ke-3 penyimpanan dan menurun pada penyimpanan bulan ke-4 sampai bulan ke-6. Isolat MSJ memiliki viabilitas paling tinggi dibandingkan dengan *Bacillus* sp. Isolat AA2 dan *Bacillus* sp. Isolat MER, yaitu  $2.5 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> pada formula 4 di penyimpanan bulan ke-3, tetapi pada bulan ke-6 penyimpanan tidak ada lagi bakteri yang tumbuh. Viabilitas bakteri pada formula 1 cenderung stabil sampai penyimpanan 6 bulan, sedangkan pada formula 2 dan 3 mampu tumbuh masing-masing sampai penyimpanan bulan ke-5 dan ke-2 (Gambar 1).

## PEMBAHASAN

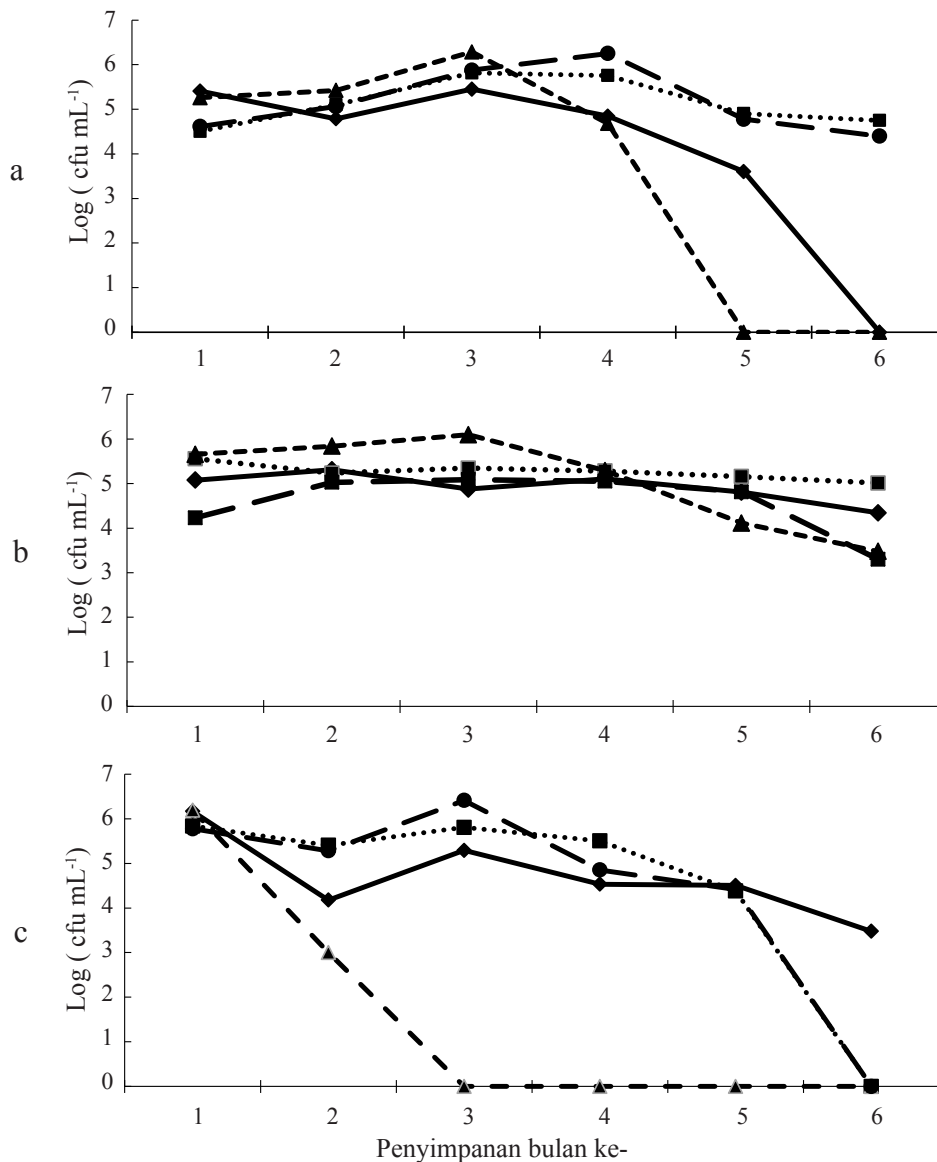
Kemampuan bertahan bakteri endofit selama penyimpanan dalam formula berbeda-beda antarbakteri. Kemampuan tersebut akan menentukan viabilitas sel selama penyimpanan. Hal ini dikarenakan viabilitas sel bakteri dipengaruhi oleh kandungan nutrisi pada medium pembawa dan tambahan, kemampuan bertahan bakteri, dan lamanya penyimpanan. Perbedaan nutrisi yang tersedia pada medium berpengaruh terhadap pembentukan sel mikroorganisme (Giyanto *et al.* 2009).

Tiga bakteri endofit yang digunakan dalam formula dengan bahan pembawa talk mampu bertahan sampai penyimpanan bulan ke-5 dan ke-6. Talk merupakan jenis tanah mineral yang dominan berasosiasi dengan kaolinit dan gipsit. Stabilitas talk relatif berbeda dengan mineral liat yang lain karena komponen talk

Tabel 2 Karakter fisiologi bakteri endofit

Karakter fisiologis	Jenis bakteri endofit		
	<i>Bacillus</i> sp. isolat AA2	<i>Bacillus</i> sp. isolat MER	Isolat MSJ
Uji gram	+	+	-
Reaksi hipersensitif	-	-	-
Aktivitas kitinolitik	+	+	-
Aktivitas proteolitik	+	+	-
Aktivitas lipolitik	-	-	+
Produksi IAA	+	+	+
Pelarut fosfat	-	-	-
Penambat Nitrogen	+	-	+

+, bakteri bereaksi positif terhadap uji-uji fisiologis; -, bakteri bereaksi negatif terhadap uji-uji fisiologis



Gambar 1 Kerapatan populasi bakteri endofit. a, *Bacillus* sp. AA2; b, *Bacillus* sp. MER dan; c, isolat MSJ dalam beberapa formula tepung. —●—, formula 1; .....■....., formula 2; -▲-, formula 3 dan; —◆—, formula 4.

mempunyai kandungan tanah liat yang sangat kuat. Talk juga memiliki sifat halus, licin, penghisap minyak dan lemak, konduktivitas listrik rendah, penghantar panas tinggi, dan berkekuatan tinggi (Dixon 1989). Talk dengan penambahan selulosa, glukosa, *silica copper*, kalsium, besi, dan natrium dapat mempertahankan viabilitas *Pseudomonas* GanoEB3 sampai penyimpanan 12 bulan dan meningkatkan pertumbuhan kelapa sawit (Wahab *et al.* 2014). Formula talk dari kelompok *Pseudomonas* dan *Enterobacteriaceae* yang telah diatur tekanan osmotiknya di dalam medium dengan penambahan sukrosa dan

metalselulosa 1% dapat bertahan 10–12 bulan (Caesar dan Burr 1991).

Isolat MSJ memiliki viabilitas tertinggi dibandingkan dengan *Bacillus* sp. isolat AA2 dan *Bacillus* sp. isolat MER, yaitu  $2.5 \times 10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> pada formula 4. Tingginya pertumbuhan bakteri endofit menunjukkan tingginya daya viabilitas bakteri. Pertumbuhan optimum bakteri endofit karena bahan tambahan atau substrat dalam formula masih mampu memberikan nutrisi atau masih mendukung bagi kehidupan populasi bakteri yang terus meningkat. Viabilitas cukup tinggi karena bakteri mensintesis zat-zat yang terkandung



dalam formula yang dapat memicu bakteri dalam mensekresi metabolit selnya untuk pertumbuhan sel secara optimal (Ankardani *et al.* 2010). Formula dengan penambahan CMC berfungsi sebagai zat aditif dan sebagai pengembang, kalsium karbonat sebagai sumber kalsium untuk pertumbuhan bakteri dan menetralkan pH pada medium bahan pembawa (Ankardani *et al.* 2010). Bentonit berupa bubuk sangat halus dan ringan berfungsi dalam penyerapan cairan. Kapasitas serap yang tinggi menyebabkan jumlah sel bakteri yang terikat lebih banyak (Ting *et al.* 2009).

Penurunan jumlah koloni bakteri disebabkan oleh berkurangnya nutrisi yang terkandung dalam medium karena penyimpanan. Sulistiani (2009) menyatakan bahwa bahan pembawa yang komplis dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri dan mendukung ketahanan hidup bakteri endofit selama penyimpanan.

Penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata populasi bakteri endofit pada bulan pertama rendah dan meningkat pada bulan ke-2. Pada bulan ke-2 sampai ke-4, penyimpanan populasi cenderung stabil. Hal ini terjadi karena pada awal penyimpanan bakteri endofit membutuhkan waktu untuk beradaptasi dengan lingkungannya. Setelah mampu beradaptasi dengan baik maka populasi akan cenderung stabil. Penyimpanan bulan ke-5 sampai ke-6, viabilitas bakteri rata-rata mengalami penurunan. Penurunan viabilitas bakteri disebabkan karena berkurangnya nutrisi dalam formula penyimpanan karena telah lama disimpan. Jika nutrisi kurang maka pertumbuhan akan menurun. Selain itu penurunan populasi tersebut disebabkan oleh adanya kompetisi antibakteri dalam memperoleh nutrisi untuk pertumbuhannya (Sulistiani 2009).

Indikator yang digunakan untuk menentukan potensi bakteri endofit sebagai agens antagonis ialah karakter fisiologinya, di antaranya kemampuan bakteri menghasilkan enzim ekstrasel (kitinase, protease, dan lipase), potensi dalam mobilisasi fosfat, penambat nitrogen, dan produksi hormon IAA. *Bacillus* sp. isolat AA2 dan *Bacillus* sp. isolat MER menghasilkan enzim protease dan

kitinase, enzim lipase hanya dihasilkan oleh isolat MSJ. Uji penambat nitrogen dihasilkan oleh *Bacillus* sp. isolat AA2, dan isolat MSJ. Ketiga isolat tersebut mampu menghasilkan hormon IAA tetapi tidak menunjukkan kemampuannya dalam memobilisasi fosfat.

Enzim ekstrasel yang dihasilkan bakteri endofit ini berpotensi digunakan sebagai agens biokontrol nematoda pada tanaman lada. *Bacillus* sp. isolat AA2 dan *Bacillus* sp. isolat MER menghasilkan enzim kitinase dan protease. Enzim tersebut diketahui dapat menekan populasi nematoda (Kumar *et al.* 2005). Enzim tersebut mampu mendegradasi telur dan larva nematoda. Sikora *et al.* (2007) melaporkan bahwa mekanisme bakteri endofit sebagai biokontrol nematoda, diantaranya dengan mempengaruhi penetrasi, reproduksi, dan populasi nematoda. Hormon IAA yang dihasilkan bakteri endofit diketahui dapat memacu pertumbuhan tanaman lada. Puspita *et al.* (2013) menyatakan bahwa kandungan hormon IAA yang dihasilkan berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dengan merangsang pembelahan sel dan pengatur pembesaran sel serta memacu menyerap air dan nutrisi yang mempengaruhi pertumbuhan tanaman.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah memberikan beasiswa melalui jalur BPPDN tahun 2013–2015.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ankardani SS, Heydari A, Khorasani N, Arjmandi R. 2010. Development of the bioformulation of *Pseudomonas fluorescens* and evaluation of these products against damping-off of cotton seedlings. *J Plant Pathol.* 92:83–88.
- Baehaki A, Rinto, Budiman A. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa Indralaya Sumatera Selatan. *J Teknol Indust Pangan.* 1(22):37–42.
- Caesar AJ, Burr TJ. 1991. Effect of conditioning, betaine, and sucrose on

- survival of rhizobacteria in powder formulations. *Appl Environ Microbiol.* 57(1):168–172.
- Chen CY, Wang YH, and Huang CJ. 2004. Enhancement of the antifungal activity of *Bacillus subtilis* by the chitinase encoded by *Bacillus circulans* chiA gene. *J Microbiol.* 50:451–454. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/w04-027>.
- Dixon JB. 1989. *Minerals in Soil Environments. Ed ke-2*. Madison (US): Soil Science Society of America Inc. Hlm 357–398.
- Giyanto A, Suhendar, Rustam. 2009. Kajian pembiakan bakteri kitinolitik *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. pada limbah organik dan formulasinya sebagai pestisida hayati (BIO-Pesticide). Prosiding seminar hasil penelitian. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor. hlm 849–858.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffe WF, Kloepper JW. 1997. Bacterial endophytes in agricultural crop. *J Microbiol.* 43:895–914. DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/m97-131>.
- Hariprasad P, Divakara S, Niranjana S. 2011. Isolation and characterization of chitinolytic rhizobacteria for the management of *Fusarium* wilt in tomato. *Crop Protec.* 30(12):1606–1612. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.032>.
- Huang HC, Schurink R, Denny TP, Atkinson MM, Baker CJ, Yuce I, Hutcheson SW, Collmer A. 1988. Molecular cloning of a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* gene cluster that enables *Pseudomonas fluorescens* to elicit the hypersensitive response in Tobacco plants. *J Bacter.* 10(170):5748–5756.
- Kouker G, Jaeger K. 1987. Specific and sensitive plate assay for bacterial lipases. *Appl Environ Microbiol.* 53(1): 211–213.
- Kumar RS, Ayyadurai N, Pandiaraja P, Reddy AV, Venkateswaru Y, Prakash O. 2005. Characterization of fungal metabolite produced by a new strain *Pseudomonas aeruginosa* that exhibits broad-spectrum antifungal activity and biofertilizing traits. *J Appl Microbiol.* 98(1):145–154. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02435.x>.
- Mitchell R, Alexander M. 1962. Lysis of soil fungi by bacteria. *J Microbiol.* 9:169–177.
- Muis A. 2006. Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control. *J Indones Agri Sci.* 7(2):51–56.
- Munif A, Harni R. 2011. Keefektifan bakteri endofit untuk mengendalikan nematoda parasit *Meloidogyne incognita* pada tanaman lada. *Bul Ristri.* 2(3):377–382.
- Puspita F, Zul D, Khoiri A. 2013. Potensi *Bacillus* sp. asal rizosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu sebagai rhizobacteria pemacu pertumbuhan dan antifungsi pada pembibitan kelapa sawit. *JOM FAPERTA.* 2014:1–2.
- Sikora RA, Schafer K, Dababat. 2007. Modes of action associated with microbially induced in planta suppression of plant parasitic nematodes. *Aus Plant Pathol.* 36:124–134. DOI: <http://dx.doi.org/10.1071/AP07008>.
- Sulistiani. 2009. Formulasi Spora *Bacillus subtilis* sebagai agens hayati dan PGPR (*plant growth promoting rhizobacteria*) pada berbagai bahan pembawa [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Thakuria D, Talukdar NC, Goswami C, Hazarika S, Boro RC, Khan MR. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere in rice grown in acidic soil from Assam. *Curr Sci.* 86:978–985.
- Ting ASY, Fang MT, Tee CS. 2009. Assesment on the effect of formulative materials on the viability and efficacy of *Serratia marcescens* a biocontrol agent againts *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* race 4. *J Agri Bio Sci.* 4:283–288. DOI: <http://dx.doi.org/10.3844/ajabssp.2009.283.288>.
- Wahab NIA, Nulit R, Seman IA, Omar H. 2014. Capability of powder fromulation of bioorganic containing *Pseudomonas GanoEB3* for promoting the growth of Oil Palm seedling. *Int J Agri Crop Sci.* 7(12):988–992.
- Wibowo AR. 2013. Isolasi bakteri endofit dari tanaman kehutanan dan potensinya untuk pengendalian *Meloidogyne* spp. pada tanaman tomat [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

- Widyawati A. 2008. *Bacillus* sp. asal rizosfer kedelai yang berpotensi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan biokontrol fungi patogen akar [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Yim WJ, Poonguzhali S, Madhaiyan M, Palaniappan P, Siddikee M, Sa T. 2009. Characterization of plant-growth promoting diazotrophic bacteria isolated from field grown *Chinese cabbage* under different fertilization conditions. *J Microbiol.* 47(2):147–155. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12275-008-0201-4>.